

# L-Arginine treatment during acute and long-term endotoxemia in the pig : effects on jejunal motility and interorgan protein, arginine and nitric oxide metabolism

## Citation for published version (APA):

Bruins, M. J. (2001). *L-Arginine treatment during acute and long-term endotoxemia in the pig : effects on jejunal motility and interorgan protein, arginine and nitric oxide metabolism*. Universiteit Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/2001

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 04 Dec. 2020

**SUMMARY/SAMENVATTING**

---

## Summary

Sepsis is characterized by the presence of bacteria or their cell wall components (such as endotoxin) in the circulation. These endotoxins induce an immune response, which aims to eradicate the bacterial infection. Owing to the inadequate immune response in immunocompromised individuals, bacteria can break out into the circulation and an infection may develop into sepsis. After exposure to bacterial endotoxin or certain cytokines, expression of the inducible nitric oxide synthase (NOS-II) occurs in a wide variety of tissues. This NOS-II enzyme produces large amounts of nitric oxide (NO) for long periods and is implicated in the pathophysiologic changes manifest in sepsis. The role of NO in endotoxin induced septic shock remains controversial; NO is a crucial mediator of organ defense, but, paradoxically, it also contributes to tissue injury in certain situations. Presumably, in this, the amount of NO synthesized is of importance. Moderate NO synthesis results in optimal defeat of the infection whereas insufficient or uncontrolled NO production results in tissue damage. The release of arginine as a substrate of NO over a prolonged period of time may be useful in overcoming the reduced plasma arginine levels as occur in prolonged sepsis. Provision of arginine-enriched enteral formulas has already proven to be beneficial under certain catabolic situations such as postoperative stress and severe sepsis. Nevertheless, the enteral diets used in these studies consisted of multiple components as a result of which a beneficial affect may not uniquely be attributed to arginine as such. As a model of sepsis and recovery, pigs were continuously infused endotoxin and, subsequently, enterally fed. Endotoxin infusion was accompanied by generous fluid infusion to replenish intravascular volume losses en to elicit a hyperdynamic circulation. In this thesis, the effects on the motility pattern in the jejunum, the protein synthesis and degradation and the arginine and NO metabolism in the different organs were described. Subsequently, the effects of arginine treatment on these aspects were evaluated. The sepsis model was, besides increased body temperature, characterized by maintained to increased perfusion of the organs, maintained mean arterial blood pressure and increased cardiac output. These are all characteristics of the hyperdynamic circulation encountered in septic patients receiving modern intensive care. The unchanged protein synthesis and accelerated protein breakdown in muscle during endotoxin infusion attribute to the net protein loss which constitutes a main hallmark of the septic condition. The protein synthesis and degradation of the portal-drained viscera remained unchanged during endotoxemia. The mobilization of amino acids and lactate from the periphery provide substrate for the liver. The increase in net amino acid and lactate uptake by the liver during endotoxemia was related with increased liver gluconeogenesis. During sepsis, the liver acts as a main provider of glucose which serves as substrate for immune cells and, organs such as the spleen and intestines which are to a large extent involved in the host's immune response. Increased net glucose uptake and net lactate release by the

muscle and portal-drained viscera reflect increased glycolysis in these organs. The increase in liver protein synthesis that was observed during endotoxin infusion presumably reflects enhanced production of acute phase proteins, which play an important role in the immune response of the host. In the recovery phase of endotoxemia during enteral feeding, net protein loss was no longer present in the muscle but net protein gain due to increase in protein synthesis exceeding the increase in protein degradation. This may reflect replenishment of the, during endotoxemia, degraded muscle proteins. While liver protein synthesis was sustained in the recovery phase of endotoxemia, increased liver gluconeogenesis was no longer observed. In the recovery situation, an increase in net release of amino acids in the portal vein was observed. Since the protein synthesis and breakdown in the portal-drained viscera were not altered, microbial amino acid synthesis could probably play a role in this amino acid release. Endotoxin exposure resulted in increased rate of N<sub>2</sub>-arginine to N<sub>1</sub>-citrulline conversion, indicating stimulated NO production by the portal-drained viscera and the liver. Most likely, this is caused by cytokines and endotoxin induced NOS-II activity. Endotoxin infusion accelerated the migrating motor complex (MMC) migration and MMC cycling frequency along the jejunum, which both were maintained the following day post-endotoxemia. Whereas gastric emptying and colonic passage often is delayed during sepsis, it appears that transit of luminal contents through the small intestine are accelerated.

Both during and after endotoxin exposure, L-arginine administration enhanced protein synthesis and degradation in the muscle and reduced the increase in liver protein synthesis and degradation. Although L-Arginine treatment diminished the protein turnover at whole body level, it resulted in, neither a negative, nor a positive net protein balance. This possibly reflects limited liver acute phase response. L-Arginine treatment increased the total appearance and disappearance of arginine at whole body level. Increased arginine degradation and, to a lesser extent, decreased arginine de novo synthesis by the kidneys, were involved in the regulation of arginine homeostasis. L-Arginine administration during and after endotoxemia increased the NO production by the portal-drained viscera, liver and kidneys. This suggests that the NO synthesis rate is dependent on the arginine availability. L-Arginine infusion during and after endotoxemia restored the endotoxin-induced hypermotility. Whether there is a relation between the increased visceral NO production elicited by arginine and the improved motility function remains to be established. Based on the results of this thesis it appears justified to conclude that the NO production by the organs is rate-dependent on the arginine appearance in the circulation. L-Arginine supplementation under conditions of prolonged sepsis may exert a beneficial effect on the immune function by means of compensating the reduced arginine plasma concentrations and, thereby, improve the relative NO synthesis capacity.

## Samenvatting

Sepsis wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van bacteriën of bacteriële celwand bestanddelen (zoals endotoxine) in de bloedbaan. Deze celwandproducten zetten een immuunreactie in gang die er op gericht is om de bacteriële infectie te elimineren. Doordat de immuun response in immuun gecompromitteerde individuen ontoereikend is, kunnen bacteriën doorbreken naar de bloedbaan en kan een infectie zich tot sepsis ontwikkelen. Na blootstelling aan bacteriële endotoxines of bepaalde cytokines, vindt er expressie van het induceerbare stikstof oxide synthase enzym (NOS-II) plaats in verschillende weefsels. Dit NOS-II enzym produceert grote hoeveelheden stikstof oxide (NO) voor lange periodes en is geïmpliceerd in de pathofysiologische veranderingen die manifest zijn tijdens sepsis. De rol van NO gedurende endotoxine geïnduceerde septische shock is controversieel; NO is een cruciale mediator in orgaan afweer, maar, paradoxaal genoeg, kan het ook bijdragen tot weefselschade in bepaalde situaties. Vermoedelijk is de hoeveelheid NO die wordt aangemaakt hierbij van belang. Gematigde NO synthese resulteert in een optimale bestrijding van de infectie terwijl onvoldoende of juist ongecontroleerde NO productie tot weefselschade leidt. De afgifte van arginine als een substraat van NO over een langere tijdperiode zou nuttig kunnen zijn in de tegemoetkoming van de verlaagde arginine plasma concentraties die optreden tijdens langdurige sepsis. Toediening van arginine-verrijkte enterale formules bleek reeds gunstig in bepaalde katabole situaties zoals postoperatieve stress en ernstige sepsis waarbij het de stikstof balans en de immuun status verbeterde. Desalniettemin bestond het enterale dieet wat in deze studies werd gebruikt uit meerder componenten waardoor een gunstig effect niet enkel aan arginine kan worden toegewezen. Als een model van sepsis en herstel van sepsis werden varkens continu geïnfundeed met endotoxine en, vervolgens, enteraal gevoed. Endotoxin infusie werd begeleid door genereus vocht infusie om het intravasculaire volume verlies aan te vullen en een hyperdynamische circulatie te bewerkstelligen. In dit proefschrift zijn de effecten op het motiliteitspatroon van het jejunum, de eiwitsynthese en -degradatie en het arginine en NO metabolisme van de verschillende organen beschreven. Vervolgens werden de effecten van arginine behandeling op deze aspecten beschouwd. Het sepsis model werd, behalve door toegenomen lichaamstemperatuur, gekenmerkt door gehandhaafde tot toegenomen perfusie van de organen, gehandhaafde arteriële bloeddruk en toegenomen hartslag capaciteit. Dit zijn allemaal karakteristieken van de hyperdynamische circulatie zoals die wordt waargenomen in septische patiënten die moderne eerste hulp krijgen. De onveranderde eiwitsynthese en versnelde eiwitafbraak in de spier tijdens endotoxine infusie dragen bij tot het netto eiwit verlies wat zo kenmerkend is voor de septische conditie. De eiwitsynthese en -afbraak in de portaal-gedraineerde inwendige organen

bleef onveranderd gedurende endotoxinemie. De mobilisatie van aminozuren en lactaat vanuit de periferie voorziet de lever van substraat. De toename in aminozuur en lactaat opname door de lever gedurende endotoxinemie was gerelateerd aan verhoogde mate van lever glucose nieuwvorming. Tijdens sepsis is de lever een belangrijke leverancier van glucose wat als substraat dient voor immuuncellen en, organen zoals darmen en milt die in grote mate betrokken zijn bij de immuun afweer van de gastheer. Verhoogde netto glucose opname en lactaat afgifte door de spier en de portaal-gedraineerde inwendige organen, suggereren dat de glycolyse verhoogd is in deze organen. De tijdens endotoxine infusie waargenomen toename in lever eiwitsynthese, reflecteert hoogstwaarschijnlijk de synthese van acute fase eiwitten welke een belangrijke rol spelen in de immuun afweer van de gastheer. In de herstelfase van endotoxinemie gedurende enteraal voeden, is in de spier geen netto eiwit verlies meer aanwezig maar netto eiwit winst dankzij een toename in eiwitsynthese die de toename in eiwitafbraak overtreft. Dit duidt er waarschijnlijk op dat de spiereiwitten die tijdens endotoxinemie zijn afgebroken worden hersteld. Terwijl toegenomen lever eiwitsynthese nog aanhield in de herstel fase van endotoxinemie, werd geen toegenomen lever glucose nieuwvorming meer waargenomen. In de herstel situatie werd een toename in netto afgifte van aminozuren in de portale vene waargenomen. Aangezien de eiwitsynthese en -afbraak in de portaal-gedraineerde inwendige organen niet veranderde zou microbiële aminozuur synthese een rol kunnen spelen in deze vrijlaat van aminozuren. Blootstelling aan endotoxine resulteerde in verhoogde mate van  $N_2$ -arginine naar  $N_1$ -citrulline conversie, wat duidt op een gestimuleerde NO productie door de portaal-gedraineerde inwendige organen en lever. Vermoedelijk ligt hier een door cytokines en endotoxine geïnduceerde NOS-II activiteit aan ten grondslag. Endotoxine infusie versnelde de migratie snelheid van het migrerend motor complex (MMC) en de MMC verschijningsfrequentie in het jejunum welke beide nog aanwezig waren de dag na endotoxine behandeling. Terwijl gedurende sepsis de maaglediging en passage door het colon vertraagd zijn, lijkt het er dus op dat endotoxine de passage snelheid van de darminhoud door het jejunum doet toenemen.

Zowel gedurende als na endotoxine behandeling verhoogde L-arginine toediening de eiwitsynthese en -degradatie in de spier en reduceerde het de toename in lever eiwitsynthese en -afbraak. Hoewel L-arginine de eiwit omzetsnelheid op heel lichaamsniveau verminderde, realiseerde het netto in noch een positieve, noch een negatieve eiwit balans. Mogelijkerwijs reflecteert dit een beperkte lever eiwit acute fase response. L-Arginine behandeling verhoogde de totale verschijning en verdwijning van arginine op heel lichaamsniveau. Toegenomen arginine degradatie en, in mindere mate, afgenomen arginine nieuwvorming door de nier waren betrokken in de regulatie van het arginine evenwicht. L-Arginine toediening gedurende en na endotoxinemie verhoogde de

NO productie door de portaal-gedraineerde inwendige organen, lever en nieren. Dit suggereert dat de NO synthese snelheid afhankelijk is van de arginine beschikbaarheid. L-Arginine infusie gedurende en na endotoxinemie herstelde de endotoxinegeïnduceerde hypermotiliteit. Of er een samenhang is met de verhoogde darm NO productie bewerkstelligd door arginine toediening en de verbeterde motiliteitsfunctie is iets wat nog een open staat.

Tenslotte lijkt op grond van de gegevens in dit proefschrift de conclusie gerechtvaardigd dat de NO productie door de organen afhankelijk is van de arginine aanwezigheid in de circulatie. Arginine aanvulling onder condities van langdurige sepsis zou mogelijk een gunstig effect kunnen uitoefenen op de immuun functie middels compensatie van de verlaagde arginine plasma concentraties en, daarbij, de relatieve NO synthese capaciteit verbeteren.





